

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **236833**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **425328**

(22) Data zgłoszenia: **24.04.2018**

(51) Int. Cl.

A61K 31/05 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A01N 31/16 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

A61K 8/35 (2006.01)

A23L 3/3499 (2006.01)

(54)

Zastosowanie α,β -dihydroksantohumolu

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

04.11.2019 BUP 23/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.02.2021 WUP 04/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet Przyrodniczy
we Wrocławiu, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

AGNIESZKA BARTMAŃSKA, Wrocław, PL

TOMASZ TRONINA, Międzybórz, PL

JAROSŁAW POPŁOŃSKI,

Szklarska Poręba, PL

SANDRA SORDON, Komprachcice, PL

EWA WAŁECKA-ZACHARSKA, Wrocław, PL

JACEK BANIA, Wrocław, PL

EWA HUSZCZA, Wrocław, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 236833 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie α,β -dihydroksantohumolu o wzorze 1, do wytworzenia preparatu przeciwbakteryjnego.

W dostępnej literaturze naukowej opisano właściwości przeciwtleniające i cytotoksyczne wobec ludzkich linii nowotworowych α,β -dihydroksantohumolu (Tronina T., Bartmańska A., Filip-Psurska B., Wietrzyk J., Popłoński J., Huszcza E. (2013). Fungal metabolites of xanthohumol with potent antiproliferative activity on human cancer cell lines *in vitro*. *Bioorg. Med. Chem.* 21(7):2001–2006).

Znana jest przeciwdrobnoustrojowa aktywność ekstraktów z szyszek chmielu oraz ekstraktów z wychmielin, które mogą zawierać niewielkie ilości α,β -dihydroksantohumolu (Kramer B., Thielmann J., Hickisch A., Muranyi P., Wunderlich J., Hauser C., (2015). Antimicrobial activity of hop extracts against foodborne pathogens for meat applications. *J. Appl. Microbiol.* 118(3):648–57; Różalski M., Micota B., Sadowska B., Stochmal A., Jędrejek D., Więckowska-Szakiel M., Różalska B., (2013). Antiadherent and antibiofilm activity of *Humulus lupulus* L. derived products: New pharmacological properties. *Biomed. Res. Int.*, 101089. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/101089>; Rój E., Tadić V. M., Misić D., Žižović I., Arsić I., Dobrzyńska-Inger A., Kostrzewa D., (2015). Supercritical carbon dioxide hops extracts with antimicrobial properties, *Open Chem.*, 13 (2015) 1157–1171).

W opisie patentowym PL220533 B1 wskazano ogólnie na zastosowanie α,β -dihydroksantohumolu do wytwarzania biologicznie czynnego związku jako potencjalnego przeciwtleniacza, czynnika przeciwdrobnoustrojowego w przemyśle spożywczym lub składnika suplementów diety.

W dokumencie PL221612 B1 jako potencjalne przemysłowe zastosowanie α,β -dihydroksantohumolu wskazano na jego wykorzystanie w przemyśle spożywczym do produkcji niskokalorycznych środków słodzących oraz w przemyśle farmaceutycznym do wytwarzania związków flawonoidowych, wykazujących działanie przeciwnowotworowe i antyoksydacyjne.

Problemem współczesnej medycyny są oporne na leczenie antybiotykami, zwłaszcza metycyliną, szczepy powodujące zakażenia szpitalne. Zakażenia te powodowane są zazwyczaj przez Gram-dodatnie ziarniaki *Staphylococcus*, zwłaszcza *Staphylococcus aureus*. W ostatnim czasie obserwuje się także wzrost pozaszpitalnych zakażeń gronkowcowych.

Nieoczekiwanie okazało się, że α,β -dihydroksantohumol może stanowić alternatywę dla stosowanych obecnie antybiotyków przy zwalczaniu lekoopornych bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. Dane literaturowe wskazują, że rośliny lecznicze są bogatym źródłem związków o wysokim potencjale terapeutycznym, przydatnym w nowoczesnym przemyśle farmaceutycznym, między innymi jako środki przeciwdrobnoustrojowe (Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, 12(4), 564–582). α,β -dihydroksantohumol występuje naturalnie w chmielu. Znane są też sposoby otrzymywania tego związku na drodze regioselektywnej redukcji 3'-[3,3-dimetyloallilo]-2',4',4-trihydroksy-6'-metoksychalkonu (ksantohumolu), który jest głównym flawonoidem występującym w szyszkach chmielu (Popłoński J., Sordon S., Tronina T., Huszcza E., (2014). „Selektywne uwodornienie ksantohumolu do α,β -dihydroksantohumolu”, *Przemysł Chemiczny*, 93(11), 1916–1918).

Otrzymany w ten sposób α,β -dihydroksantohumol jest doskonałym produktem do zastosowania w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym czy spożywczym. Związek o wzorze 1, może przyczynić się do opracowania nowych leków do stosowania w prewencji i leczeniu zakażeń bakteryjnych.

Istotą wynalazku jest α,β -dihydroksantohumol o wzorze 1 do zastosowania w prewencji lub leczeniu zakażeń powodowanych bakteriami *Staphylococcus*.

Korzystnie jest, gdy bakteriami *Staphylococcus* są bakterie z gatunków *Staphylococcus aureus* albo *Staphylococcus epidermidis*.

Istotą wynalazku jest także zastosowanie α,β -dihydroksantohumolu o wzorze 1 jako środka przeciwbakteryjnego, zwłaszcza w preparacie kosmetycznym albo spożywczym do eliminowania bakterii z rodzaju *Staphylococcus*.

Korzystnie jest gdy bakteriami *Staphylococcus* są bakterie z gatunków *Staphylococcus aureus* albo *Staphylococcus epidermidis*.

Wynalazek został bliżej przedstawiony na rysunku oraz w przykładzie jego wykonania.

P r z y k ł a d

Zdolność związku o wzorze 1 według wynalazku do hamowania wzrostu bakterii wrażliwych na metycylinę: *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* 4s (szczep zdeponowany w kolekcji drobnoustrojów Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu) i opornych na metycylinę:

Staphylococcus aureus ATCC 43300 i *Staphylococcus epidermidis* 91M (szczep zdeponowany w kolekcji drobnoustrojów Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu) określono metodą seryjnych rozcieńczeń na podłożu płynnym Mueller-Hintona (MHB) zgodnie z zaleceniami Instytutu Norm Klinicznych i Laboratoryjnych (The Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 11th ed). W celu zbadania właściwości przeciwbakteryjnych według wynalazku sterylne podłoże MHB zaszczenia się odpowiednimi bakteriami *Staphylococcus aureus* ATCC19095, *Staphylococcus aureus* ATCC43300, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Staphylococcus epidermidis* 4s oraz *Staphylococcus epidermidis* 91M i inkubuje przez 18 godzin w temperaturze 37°C. Hodowle rozcieńcza się do uzyskania gęstości optycznej OD₆₀₀ równej 0.01 i korzystając z danych otrzymanych z analizy krzywych wzrostu propaguje do uzyskania liczby komórek równej 6 log j.t.k. Testy wykonuje się na 96 dołkowych płytkach, do których przenosi się po 100 µL podłoża MHB zawierającego 5 µg/mL, 12,5 µg/mL, 25 µg/mL i 50 µg/mL związku przedstawionego wzorem 1. W prowadzonym teście aktywności przeciwbakteryjnej jako kontroli pozytywnej używa się ampicyliny. Następnie do dołków nanosi się bakteryjne *inocula* w ilości 100 µL. Końcowa koncentracja komórek wynosi 10⁵ komórek/dołek. Płytki nakrywa się i inkubuje przez 18 godzin w temperaturze 37°C aż zmętnienie mierzone przy długości fali równej 620 nm będzie niższe lub równe 20% kontroli. Otrzymane wyniki właściwości przeciwbakteryjnych związku przedstawionego wzorem 1 wobec szczepów *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* 4s i *Staphylococcus epidermidis* 91M przedstawiono w Tabeli 1.

T a b e l a 1. Aktywność przeciwbakteryjna α,β -dihydroksantohumolu względem określonych szczepów bakterii.

Badany szczep	Wartość MIC ₈₀ * [mg/L]	
	α,β -dihydroksantohumol	ampicylina (kontrola)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC19095	12.5	2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	12.5	>5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	12.5	>5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 4s	12.5	2.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 91M	25	>5

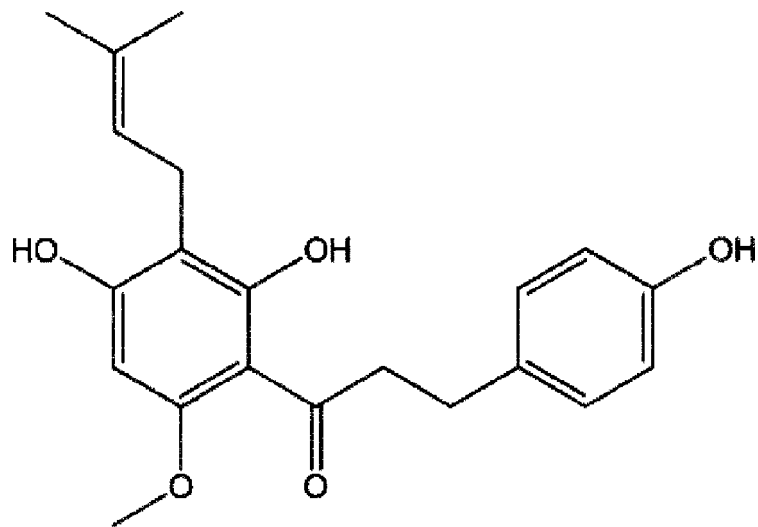
*MIC₈₀ – wartość stężenia badanego związku, przy którym obserwuje się 80% zahamowanie badanego mikroorganizmu.

Poziomy aktywności antybakteryjnej α,β -dihydroksantohumolu, wobec badanych szczepów, wskazują na możliwość jego zastosowania jako składnika preparatów antybakteryjnych, do stosowania zarówno zewnętrznego jak i doustnego.

Zastrzeżenia patentowe

1. α,β -dihydroksantohumol o wzorze 1 do zastosowania w prewencji lub leczeniu zakażeń powodowanych bakteriami z rodzaju *Staphylococcus*.
2. α,β -dihydroksantohumol o wzorze 1 według zastrz. 1, **znamienny tym**, że bakteriami *Staphylococcus* są bakterie z gatunków *Staphylococcus aureus* albo *Staphylococcus epidermidis*.
3. Zastosowanie α,β -dihydroksantohumolu o wzorze 1 jako środka przeciwbakteryjnego, zwłaszcza w preparacie kosmetycznym albo spożywczym do eliminowania bakterii z rodzaju *Staphylococcus*.
4. Zastosowanie według zastrz. 3, **znamiennie tym**, że bakteriami *Staphylococcus* są bakterie z gatunków *Staphylococcus aureus* albo *Staphylococcus epidermidis*.

Rysunek



WZÓR 1